

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS
NÍVEL MESTRADO

RAFAELA DOMINGOS OLEGARIO

**NANOPLATAFORMAS LIPÍDICAS FUNCIONALIZADAS COM N-
ACETILGLUCOSAMINA CONTENDO PACLITAXEL: UMA
ESTRATÉGIA DE DIRECIONAMENTO PARA TERAPIA
ANTICÂNCER**

CRICIÚMA
AGOSTO DE 2026

RAFAELA DOMINGOS OLEGARIO

**NANOPLATAFORMAS LIPÍDICAS FUNCIONALIZADAS COM N-
ACETILGLUCOSAMINA CONTENDO PACLITAXEL: UMA
ESTRATÉGIA DE DIRECIONAMENTO PARA TERAPIA
ANTICÂNCER**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde para obtenção
do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrez Machado de
Ávila

Coorientadora: Prof. Dra. Mariana de Melo Cardoso

CRICIÚMA

AGOSTO DE 2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

O45n Olegario, Rafaela Domingos.

Nanoplateformas lipídicas funcionalizadas com N-acetilglucosamina contendo paclitaxel : uma estratégia de direcionamento para terapia anticâncer / Rafaela Domingos Olegario. - 2026.
47 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2026.

Orientação: Ricardo Andrez Machado de Ávila.

Coorientação: Mariana de Melo Cardoso.

1. Câncer - Tratamento. 2. Carcinogênese. 3. Lipossomas. 4. N-acetilglucosamina. 5. Paclitaxel. 6. Terapia direcionada. 7. Nanotecnologia. I. Título.

CDD. 22. ed. 616.994

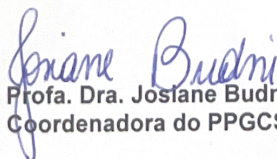
Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC

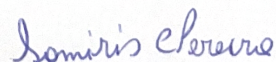


UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 609 de 14.03.2019

ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 513

Com início às 15 (quinze) horas do dia 31 (trinta e um) de agosto de 2026 (dois mil e vinte e seis), realizou-se, na Sala 003, do Bloco XXI-B, o seminário formal de apresentação dos resultados da Dissertação de Mestrado de **RAFAELA DOMINGOS OLEGARIO**, sob a orientação do **Prof. Dr. Ricardo Andrez Machado de Ávila**, intitulada “**NANOPLATAFORMAS LIPÍDICAS FUNCIONALIZADAS COM N-ACETILGLUCOSAMINA CONTENDO PACLITAXEL: UMA ESTRATÉGIA DE DIRECIONAMENTO PARA TERAPIA ANTICÂNCER**”. A dissertação foi examinada por uma banca constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. Paulo Cesar Lock Silveira (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovada, Prof. Dr. Eduardo Pacheco Rico (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovada, e Prof. Dr. Alexandre Gonçalves Dal-Bó (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovada. Com o resultado final: APROVADA, a aluna finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de MESTRA EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Os trabalhos foram concluídos às 17h (dezessete) horas, dos quais eu, Samiris Albano Pereira, Secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, lavrei a presente ata, que assino juntamente com a Profa. Dra. Josiane Budni, Coordenadora Titular do Programa. Criciúma, 31 (trinta e um) de agosto de 2026 (dois mil e vinte e seis).


Profa. Dra. Josiane Budni
Coordenadora do PPGCS


Samiris Albano Pereira
Secretária do PPGCS

FOLHA INFORMATIVA

A dissertação foi elaborada seguindo o estilo ABNT e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Fisiopatologia Experimental do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UNESC.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus e à minha família, especialmente aos meus pais, Mario José Olegario e Vânia Regina Domingos, por todo o amor, incentivo e apoio incondicional ao longo desta trajetória. Obrigada por acreditarem em mim e por me incentivarem, sempre, a seguir em busca dos meus objetivos. Esta conquista também é de vocês.

Aos meus amigos, agradeço pela presença, pelo carinho e pela companhia ao longo dessa caminhada. Obrigada por tantas vezes me ouvirem falar sobre os desafios, as incertezas e as dificuldades vivenciadas durante o mestrado. Ter pessoas queridas ao meu lado tornou essa trajetória mais leve e significativa.

De maneira muito especial, agradeço ao meu orientador, professor Ricardo Andrez Machado de Ávila, e à minha coorientadora, professora Mariana de Melo Cardoso, por todo o conhecimento, dedicação, paciência e apoio ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Mais do que orientação acadêmica, encontrei em vocês acolhimento, compreensão e respeito, especialmente nos momentos de maior dificuldade. Sou profundamente grata pela confiança depositada em mim, pela disponibilidade em me orientar e por acreditarem no meu trabalho. A contribuição de vocês foi essencial não apenas para a realização desta pesquisa, mas também para o meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro concedido durante o desenvolvimento deste trabalho, que contribuiu para a minha formação acadêmica e para a realização desta pesquisa.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para que esta etapa pudesse ser concluída. Cada apoio, ensinamento, palavra de incentivo e gesto de carinho teve sua importância ao longo desta caminhada. Levo comigo não apenas o aprendizado adquirido durante o mestrado, mas também a gratidão por todas as pessoas que fizeram parte desta história.

“Nem tudo são flores, mas tudo é semente”

Zack Magiezi.

RESUMO

O câncer constitui um relevante problema de saúde pública, e as limitações associadas à quimioterapia convencional, como baixa seletividade, distribuição sistêmica e efeitos adversos, reforçam a necessidade de sistemas de liberação mais direcionados. Neste estudo, avaliou-se o potencial antitumoral de lipossomas funcionalizados com N-acetilglucosamina (GlcNAc) e associados ao paclitaxel (PTX) em células de adenocarcinoma mamário humano MCF-7. Os lipossomas foram preparados pelo método de evaporação em fase reversa, utilizando fosfatidilcolina purificada de lecitina de soja e o anfifílico C22PEG900GlcNAc. Foram obtidas quatro formulações: lipossomas não carregados e não funcionalizados (Lipo), lipossomas funcionalizados com GlcNAc (Lipo-GlcNAc), lipossomas contendo paclitaxel (Lipo-PTX) e lipossomas funcionalizados contendo paclitaxel (Lipo-GlcNAc-PTX). A biocompatibilidade dos carreadores vazios e a atividade citotóxica das formulações contendo PTX foram avaliadas em células MCF-7 e fibroblastos dérmicos humanos FC-0024 por meio do ensaio de viabilidade celular CellTiter-Glo®. Também foram investigadas diferentes concentrações e condições de exposição, com o objetivo de comparar o PTX livre e encapsulado e verificar a contribuição da funcionalização com GlcNAc para a atividade antitumoral. As formulações apresentaram dimensões nanométricas entre ~148–219 nm, distribuição de tamanho de baixa a moderada polidispersidade de 0,176–0,268 e potencial zeta de –44 a –65 mV. Os lipossomas vazios, funcionalizados ou não, não apresentaram efeitos citotóxicos relevantes nas linhagens avaliadas, demonstrando a biocompatibilidade do carreador lipídico. Em contrapartida, as formulações contendo PTX reduziram a viabilidade celular de maneira dependente da concentração e do período de exposição. A comparação entre Lipo-PTX e Lipo-GlcNAc-PTX indicou que a presença do carboidrato na superfície pode influenciar a interação e a internalização das partículas pelas células tumorais nas primeiras horas de exposição. Em conjunto, os resultados demonstram que os lipossomas funcionalizados com GlcNAc constituem uma plataforma biocompatível e promissora para a administração de PTX, com potencial para favorecer uma terapia antitumoral mais seletiva e direcionada.

Palavras-chave: Câncer; Lipossomas; N-acetilglucosamina; Paclitaxel; Nanotecnologia; Terapia direcionada.

ABSTRACT

Cancer represents a major public health concern, and the limitations associated with conventional chemotherapy, such as low selectivity, systemic distribution, and adverse effects, reinforce the need for more targeted drug delivery systems. In this study, the antitumor potential of N-acetylglucosamine (GlcNAc)-functionalized liposomes loaded with paclitaxel (PTX) was evaluated in human breast adenocarcinoma MCF-7 cells. The liposomes were prepared using the reverse-phase evaporation method with phosphatidylcholine purified from soybean lecithin and the C22PEG900GlcNAc amphiphile. Four formulations were obtained: unloaded and non-functionalized liposomes (Lipo), GlcNAc-functionalized liposomes (Lipo-GlcNAc), paclitaxel-loaded liposomes (Lipo-PTX), and GlcNAc-functionalized paclitaxel-loaded liposomes (Lipo-GlcNAc-PTX). The biocompatibility of the unloaded carriers and the cytotoxic activity of the PTX-containing formulations were evaluated in MCF-7 cells and FC-0024 human dermal fibroblasts using the CellTiter-Glo® cell viability assay. Different concentrations and exposure conditions were also investigated to compare free and encapsulated PTX and to assess the contribution of GlcNAc functionalization to antitumor activity. The formulations exhibited nanoscale dimensions ranging from approximately 148 to 219 nm, low to moderate size-distribution polydispersity, with polydispersity index values ranging from 0.176 to 0.268, and zeta potentials ranging from −44 to −65 mV. The unloaded liposomes, whether functionalized or non-functionalized, did not induce relevant cytotoxic effects in either cell line, demonstrating the biocompatibility of the lipid carrier. In contrast, the PTX-containing formulations reduced cell viability in a concentration- and exposure time-dependent manner. Comparison between Lipo-PTX and Lipo-GlcNAc-PTX indicated that the presence of the carbohydrate on the liposomal surface may influence particle–tumor cell interactions and internalization during the initial hours of exposure. Taken together, the results demonstrate that GlcNAc-functionalized liposomes represent a biocompatible and promising platform for PTX delivery, with the potential to support a more selective and targeted antitumor therapy.

Keywords: Cancer; Liposomes; N-acetylglucosamine; Paclitaxel; Nanotechnology; Targeted therapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Avaliação de citotoxicidade dos lipossomas sem o medicamento.	30
Figura 2 - Avaliação da citotoxicidade dos lipossomas carregados com o PTX.....	31
Figura 3 – Avaliação da citotoxicidade dos lipossomos carregados com PTX após curta exposição.	32
Figura 4 - Avaliação comparativa da citotoxicidade das diferentes formulações lipossomais.	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Doses equivalentes de paclitaxel para as concentrações de lipossomas testadas....	28
Tabela 2 - Caracterização físico-química após a síntese.	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	Coleção Americana de Culturas de Tipos (do inglês, <i>American Type Culture Collection</i>);
ATP	Adenosina Trifosfato;
C22PEG900GlcNAc	conjugado anfifílico constituído por cadeia alquílica C22, polietilenoglicol 900 e N-acetilglucosamina;
CCD	Cromatografia em Camada Delgada;
DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz (do inglês, <i>Dynamic Light Scattering</i>);
DMEM	Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (do inglês, <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>);
DNA	Ácido Desoxirribonucleico;
DP	Desvio Padrão;
ELS	Espalhamento de Luz Eletroforético (do inglês, <i>Electrophoretic Light Scattering</i>);
EUA	Estados Unidos da América;
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (do inglês, <i>Food and Drug Administration</i>);
FDG	18-fluoro-2-desoxi-D-glicose;
GlcNAc	N-acetilglucosamina;
GLUT	Transportador de Glicose;
GLUT1	Transportador de Glicose tipo 1;
GLUT3	Transportador de Glicose tipo 3;
HIF-1	Fator Induzível por Hipóxia 1 (do inglês, <i>Hypoxia-Inducible Factor 1</i>);
INCA	Instituto Nacional de Câncer;
MCF-7	Linhagem celular de adenocarcinoma mamário humano;
MDA-MB-231	Linhagem celular humana de adenocarcinoma mamário;
nab-PTX	Paclitaxel Ligado à Albumina;
NCI	<i>National Cancer Institute</i> (Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos);
NPs	Nanopartículas;
P/S	Penicilina/Estreptomicina;
PBS	Solução Salina Tamponada Com Fosfato (do inglês, <i>Phosphate-Buffered Saline</i>);
PC	Fosfatidilcolina;
PDI	Índice de Polidispersidade (do inglês, <i>Polydispersity Index</i>);
PEG	Polietilenoglicol;

PET Tomografia por Emissão de Pósitrons;
PTX Paclitaxel;
PZ Potencial Zeta;
RB Proteína do Retinoblastoma;
SFB Soro Fetal Bovino;
SGLT Cotransportador de Sódio e Glicose (do inglês, *Sodium-Glucose Linked Transporter*);
SER Sistema Reticuloendotelial;
TME Microambiente Tumoral (do inglês, *Tumor Microenvironment*);
TP53 Proteína Tumoral p53 (do inglês, *Tumor Protein p53*);
VEGF Fator de Crescimento Endotelial Vascular (do inglês, *Vascular Endothelial Growth Factor*).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 CARCINOGENESE	15
1.2 TRATAMENTO.....	20
2. OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GERAL.....	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 SÍNTESE DOS LIPOSSOMAS	26
3.1.1 Purificação da lecitina de soja	26
3.1.2 Preparação das vesículas.....	26
3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS	27
3.3 CULTURA CELULAR E ENSAIO DE VIABILIDADE	27
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
4. RESULTADOS	29
4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS LIPOSSOMAS	29
4.2 CULTURA CELULAR E ENSAIO DE VIABILIDADE	30
5. DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

O câncer é um tipo de tumor resultante do acúmulo de alterações genéticas e epigenéticas que comprometem a homeostase celular. Essas alterações promovem a aquisição de múltiplos fenótipos malignos, conferindo às células tumorais a capacidade de proliferar-se de forma desregulada, invadir tecidos adjacentes e disseminar-se para órgãos distantes por meio do processo de metástase. Esse comportamento agressivo está associado à desregulação de vias celulares fundamentais, incluindo mecanismos envolvidos no reparo do DNA, controle do ciclo celular, regulação da proliferação, evasão da resposta imunológica e resistência à morte celular programada. (SCHWARTZ, 2024; HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Atualmente, o câncer representa uma das principais causas de morbimortalidade em escala global, configurando-se como um dos maiores desafios para a saúde pública. Estima-se que, em 2022, aproximadamente 20 milhões de novos casos de câncer foram diagnosticados e cerca de 9,7 milhões de mortes foram atribuídas à doença em todo o mundo. Além disso, cerca de uma em cada cinco pessoas desenvolverá câncer ao longo da vida, enquanto aproximadamente um em cada nove homens e uma em cada doze mulheres morrerão em decorrência da doença (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2024).

Entre os tipos mais incidentes destacam-se os cânceres de pulmão, mama, colorretal e próstata, os quais apresentam elevada contribuição para a carga global da doença. No Brasil as projeções mais recentes indicam que o câncer vem se consolidando como um dos principais problemas de saúde pública, aproximando-se das doenças cardiovasculares como uma das principais causas de mortalidade. Nesse contexto o câncer de mama representa um importante problema de saúde pública no Brasil, sendo a neoplasia mais frequentemente diagnosticada entre as mulheres e correspondendo a aproximadamente 30% dos casos de câncer na população feminina. Para cada ano do triênio 2026–2028, são estimados 78.610 novos casos da doença, equivalentes a um risco de 71,57 casos por 100 mil mulheres (INCA, 2026). Além da elevada incidência, destaca-se sua expressiva mortalidade, uma vez que, em 2017, o câncer de mama foi a principal causa de morte por neoplasias entre as brasileiras, com 16.724 óbitos (SANTOS et al., 2022).

Esse aumento no número de pessoas acometidas por neoplasias pode ser atribuído a uma combinação de fatores, como o envelhecimento populacional, mudanças nos hábitos de vida, desigualdades socioeconômicas e regionais, além das limitações no acesso às estratégias de prevenção, ao diagnóstico precoce e ao tratamento adequado em tempo oportuno (INCA, 2026).

1.1 CARCINOGENESE

Apesar da existência de diversos tipos e subtipos de câncer, cada um com características biológicas e moleculares distintas, reconhece-se que os cânceres humanos se desenvolvem por meio de um processo multifásico, no qual a aquisição progressiva de certas capacidades funcionais está associada às diferentes etapas da patogênese tumoral. A diversidade desta patologia, observada entre os diferentes tipos tumorais e seus subtipos, envolvem alterações específicas que conferem às células capacidades e características malignas (HANAHAAN; WEINBERG, 2011; KROEMER; POUYSSÉGUR, 2008).

Embora esses mecanismos especializados sejam fundamentais para determinados contextos tumorais, há características marcantes do câncer que foram definidas com base em parâmetros amplamente compartilhados entre os diferentes tipos de câncer humano. À medida que as células normais evoluem progressivamente para um estado neoplásico, elas adquirem uma sucessão de características que lhes permitem tornarem-se tumorais e, em última instância, malignas (HANAHAAN; WEINBERG, 2011).

Essencialmente estas características conferem vantagens seletivas para sobrevivência e proliferação celular, através de modificações genéticas e epigenéticas. Em condições fisiológicas, o ciclo celular é rigorosamente controlado por uma série de proteínas reguladoras e pontos de verificação que garantem que as células se dividam apenas quando necessário e que quaisquer erros na replicação do DNA sejam corrigidos. O desenvolvimento do câncer geralmente resulta de alterações nos genes que controlam o ciclo celular, as quais interrompem a regulação normal do crescimento, resultando na divisão descontrolada (ALMALKI, 2023; ICARD et al., 2019; HANAHAAN; WEINBERG, 2011).

A instabilidade genômica e o acúmulo de mutações são considerados fatores facilitadores da carcinogênese. Alterações em genes responsáveis pela manutenção da integridade do DNA e o reparo de danos genéticos, favorecem a seleção de subpopulações de células que apresentam características capazes de promover a progressão tumoral. Dessa forma, mutações que ativam oncogenes ou inativam genes supressores tumorais contribuem para a aquisição das demais características carcinogênicas, proporcionando a diversidade necessária para acelerar a incorporação dessas capacidades durante o desenvolvimento tumoral (ALMALKI, 2023; HANAHAAN; WEINBERG, 2011; KROEMER; POUYSSÉGUR, 2008).

Uma das consequências dessas alterações é a capacidade de evitar os supressores de crescimento. Nas células cancerígenas, alterações em vias reguladoras do crescimento, incluindo aquelas relacionadas a proteínas supressoras tumorais, permitem que esses sinais

inibitórios sejam ignorados. A perda ou inativação de reguladores como RB e TP53 (gene co-repressor de transcrição do Retinoblastoma e Proteína Tumoral p53) favorece a progressão do ciclo celular mesmo diante de condições que normalmente induziriam parada proliferativa, senescência ou morte celular. Assim, as células tumorais tornam-se menos dependentes dos mecanismos fisiológicos que limitam sua expansão (HANAHA; WEINBERG, 2011; KROEMER; POUYSSÉGUR, 2008).

Paralelamente, as células cancerígenas desenvolvem mecanismos de resistência à morte celular, principalmente por meio da evasão da apoptose. Em condições normais, danos extensos ao DNA, estresse celular ou ausência de sinais de sobrevivência podem desencadear a morte programada da célula ou apoptose. Entretanto, células tumorais podem adquirir alterações que reduzem a ativação das vias apoptóticas, seja pela perda da função de proteínas pró-apoptóticas, seja pelo aumento da atividade de proteínas antiapoptóticas. A inativação da via mediada pelo gene TP53, por exemplo, reduz a capacidade da célula de responder adequadamente a danos genômicos. Como consequência, células que deveriam ser eliminadas conseguem permanecer viáveis e continuar sua expansão, contribuindo para a progressão do tumor (AHMED; BICKNELL, 2009; KROEMER; POUYSSÉGUR, 2008).

Outro mecanismo fundamental é a aquisição da imortalidade replicativa. Células normais apresentam um número limitado de divisões, em grande parte devido ao encurtamento progressivo dos telômeros, estruturas que protegem as extremidades dos cromossomos. A cada ciclo de divisão, os telômeros tendem a diminuir até atingir um comprimento crítico, desencadeando senescência ou, em determinadas condições, morte celular. As células cancerígenas podem superar essa limitação por meio da reativação da telomerase, uma enzima capaz de adicionar sequências teloméricas às extremidades dos cromossomos. A manutenção dos telômeros permite que as células continuem se dividindo por períodos prolongados, evitando o limite replicativo associado ao encurtamento telomérico. Dessa maneira, a ativação da telomerase constitui um importante mecanismo para a aquisição da chamada imortalidade replicativa, permitindo a manutenção de clones tumorais por sucessivas gerações celulares (HANAHA; WEINBERG, 2011; SHAY; WRIGHT, 2019; MACIEJOWSKI; DE LANGE, 2017).

Outro fator importante para a sobrevivência e progressão tumoral é a indução da angiogênese. Durante este processo, as células tumorais estimulam a formação de novos vasos sanguíneos a partir da vasculatura preexistente. À medida que o tumor cresce, sua elevada demanda por oxigênio e nutrientes pode levar à formação de regiões de hipóxia, capazes de ativar fatores de resposta celular, especialmente o fator induzível por hipóxia (HIF-1). A

ativação dessa via promove a expressão de fatores pró-angiogênicos, com destaque para o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que estimula a proliferação, migração e organização das células endoteliais. Dessa forma, as células tumorais conseguem modificar o microambiente ao seu redor para favorecer a formação de uma rede vascular que fornece oxigênio e nutrientes e, conseqüentemente, sustenta o crescimento e a expansão do tumor (AHMED; BICKNELL, 2009; HANAHAN; WEINBERG, 2011). Entretanto, os vasos sanguíneos formados durante a angiogênese tumoral geralmente apresentam organização e funcionamento anormais, com maior permeabilidade e fluxo irregular, contribuindo também para a progressão tumoral. Assim, a angiogênese representa uma importante adaptação das células cancerígenas para superar as limitações impostas pelo crescimento e manter o suprimento necessário para sua contínua expansão (AHMED; BICKNELL, 2009).

Entretanto, possivelmente, a característica mais fundamental das células cancerígenas está relacionada à sua capacidade de sustentar uma proliferação celular crônica. Os tecidos normais controlam cuidadosamente a produção e a liberação de sinais promotores de crescimento que regulam a entrada e a progressão pelo ciclo de crescimento e divisão celular, garantindo assim a homeostase do número de células e, conseqüentemente, a manutenção da arquitetura e da função normal dos tecidos. Essa proliferação celular continua permite que as células tumorais mantenham continuamente a entrada e a progressão no ciclo celular. Para isso, as células cancerígenas podem produzir seus próprios fatores de crescimento, aumentar a expressão ou ativação de receptores, amplificar vias de sinalização intracelular ou apresentar alterações que mantêm essas vias permanentemente ativadas. Esses sinais também influenciam outras propriedades celulares, como a sobrevivência celular e o metabolismo energético. A ativação persistente dessas vias faz com que a célula mantenha um estado proliferativo mesmo na ausência dos estímulos fisiológicos normalmente necessários (JAIN, 2005; CARMELIET; JAIN, 2011).

A proliferação contínua, por sua vez, impõe às células tumorais uma elevada demanda por energia e por componentes necessários para a síntese de proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. Por esse motivo, a aquisição do fenótipo proliferativo está intimamente relacionada à desregulação do metabolismo celular. As células cancerígenas podem reprogramar seu metabolismo para sustentar o crescimento e a divisão acelerados, aumentando a captação e utilização de nutrientes e favorecendo a glicólise mesmo na presença de oxigênio, fenômeno denominado efeito Warburg. Nesse contexto, a glicose não é utilizada exclusivamente para produção de ATP, mas também fornece intermediários metabólicos necessários à biossíntese de nucleotídeos, aminoácidos e lipídios. Assim, a reprogramação metabólica fornece os

recursos necessários para sustentar a elevada demanda biossintética decorrente da proliferação celular (ICARD et al., 2019).

O efeito Warburg, que é um fenômeno amplamente reconhecido em que as células cancerígenas, ao contrário das células normais, utilizam predominantemente a glicólise anaeróbica, mesmo na presença de oxigênio abundante, em vez da fosforilação oxidativa mitocondrial para atender às suas demandas de energia. Esse fenômeno foi inicialmente descrito por Otto Warburg que o atribuiu como uma consequência de uma lesão respiratória irreversível e generalizada das mitocôndrias. Entretanto, esse dano as mitocôndrias nem sempre é a consequência primária do efeito warburg havendo evidências claras de que a glicólise está aumentada na maioria dos tumores sem que haja disfunção mitocondrial (TAN et al., 2026; OTTO, 2016).

Portanto, o efeito Warburg, é certamente mais do que uma simples adaptação a uma disfunção mitocondrial ou até mesmo à hipóxia. Trata-se, na verdade, de um componente crucial do fenótipo maligno e uma característica central da reprogramação metabólica das células cancerígenas, considerada uma "marca registrada do câncer". A transição para a glicólise aeróbica, seguida pela formação de lactato, é adquirida muito precocemente na carcinogênese, mesmo antes que as células tumorais sejam expostas a condições hipóxicas. O fenótipo de Warburg constitui uma assinatura metabólica de 70 a 80% dos cânceres humanos, resultante da interação entre a ativação normóxica/hipóxica do fator de transcrição fator induzível por hipóxia-1 (HIF-1), a ativação de oncogenes, a perda de função de genes supressores de tumor, a alteração de vias de sinalização e a interação com componentes do microambiente tumoral (TME), por vezes atuando em conjunto com mecanismos epigenéticos. O efeito Warburg reflete um programa metabólico das células cancerígenas que impulsiona a proliferação sustentada e acelera a progressão maligna (VAUPEL; MULTHOFF, 2021; FAUBERT; SOLMONSON; DEBERARDINIS, 2020; VAUPEL; SCHMIDBERGER; MAYER, 2019).

Essa reprogramação metabólica apresenta, contudo, uma particularidade importante em relação à eficiência energética da glicose. Por unidade de glicose, a glicólise aeróbica é um meio ineficiente de gerar ATP em comparação com a quantidade obtida pela respiração mitocondrial. No entanto, a taxa de metabolismo da glicose por meio da glicólise aeróbica é maior, de modo que a produção de lactato a partir da glicose ocorre de 10 a 100 vezes mais rápido do que a oxidação completa da glicose nas mitocôndrias. Como a mudança metabólica energética nas células cancerosas produz menos ATP por molécula de glicose, a demanda por glicose nessas células é maior do que nas células normais. Portanto, as células cancerosas

dependem de taxas mais altas de captação de glicose para suprir suas necessidades aumentadas de energia, biossíntese e redox (LIBERTI; LOCASALE, 2016; SHESTOV et al., 2014).

Além da glicose, outros monossacarídeos, como frutose, galactose e manose, podem ser utilizados pelas células neoplásicas como fontes alternativas de carbono, contribuindo tanto para a produção de energia quanto para a síntese de biomoléculas necessárias à proliferação celular. Para sustentar essa elevada demanda metabólica, as células tumorais podem aumentar ou desregular a expressão de proteínas responsáveis pela captação de hexoses. Esses transportadores são classificados em duas famílias principais: os cotransportadores de glicose dependentes de sódio (SGLTs), pertencentes à família SLC5, e os transportadores facilitadores de glicose (GLUTs), pertencentes à família SLC2. Os diferentes membros da família GLUT apresentam afinidades distintas por glicose e por outras hexoses, incluindo frutose, galactose e manose (ANCEY; CONTAT; MEYLAN, 2018; BARBOSA; MARTEL, 2020; SHIN et al., 2022).

A família GLUT são transportadores facilitadores que medeiam o transporte de glicose a favor do seu gradiente de concentração. Esta família de transportadores é composta por 14 membros: GLUT1-GLUT12, GLUT14 e o transportador H^+ /mio-inositol. Cada proteína transportadora GLUT possui diferentes afinidades pela glicose e outras hexoses, como a frutose. Entre os membros da família GLUT, a superexpressão de GLUT1 tem sido consistentemente observada em muitos tipos diferentes de câncer, incluindo câncer de mama, pulmão, renal, colorretal e pancreático, evidenciando seu papel relevante na reprogramação metabólica de diferentes neoplasias. No contexto do câncer de mama, o GLUT1 desempenha um papel central no aumento da captação de glicose pelas células tumorais. (BARBOSA; MARTEL, 2020; SZABLEWSKI, 2013)

De acordo com sua superexpressão, o GLUT1 é crucial para a captação de glicose pelas células cancerígenas e constitui o principal transportador de glicose em linhagens de câncer de mama, como MCF-7 e MDA-MB-231. A captação de glicose mediada por GLUT1 parece ser especialmente crítica nos estágios iniciais do desenvolvimento do câncer de mama, afetando a transformação celular e a formação do tumor. De fato, a superexpressão de GLUT1, que ocorre precocemente durante o processo de transformação, induz uma alteração no metabolismo das células epiteliais da mama que precede as alterações morfológicas no câncer de mama e, portanto, pode ser uma parte fundamental do processo neoplásico e é considerado um oncogene (BARBOSA; MARTEL, 2020; SZABLEWSKI, 2013; YOUNG et al., 2011; GROVER-MCKAY et al., 1998).

O aumento da captação de glicose pelas células cancerígenas tem sido explorado clinicamente no diagnóstico, acompanhamento e até mesmo como alvo terapêutico no câncer. A Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET), por exemplo, é um exame de diagnóstico e acompanhamento de câncer que utiliza 18-fluoro-2-desoxi-D-glicose (FDG), um análogo da glicose radiomarcado. Esse radiotraçador entra nas células através dos GLUTs, sendo então fosforilado por hexocinases em FDG-6-fosfato, que não pode ser metabolizado posteriormente e, portanto, se acumula no citoplasma. É importante ressaltar que a sensibilidade dessa técnica varia dependendo do tipo de câncer, e essa heterogeneidade tem sido particularmente associada à expressão tumoral de GLUT1 ou GLUT3 (LUENGO; GUI; VANDER HEIDEN, 2017).

A utilização clínica da captação de glicose como marcador da atividade tumoral evidencia a importância da reprogramação metabólica para o desenvolvimento e a manutenção do câncer. Nesse contexto, o metabolismo energético das células cancerígenas também tem sido investigado como uma oportunidade para intervenção terapêutica, uma vez que a elevada dependência de determinadas vias metabólicas pode criar vulnerabilidades específicas nas células tumorais. Assim, muitos compostos que têm como alvo o metabolismo energético das células cancerígenas estão atualmente em ensaio clínico ou aprovados como agentes terapêuticos contra o câncer. Essas estratégias reforçam o metabolismo tumoral como um importante campo para o desenvolvimento de abordagens diagnósticas e terapêuticas, especialmente diante da necessidade de tratamentos mais seletivos e direcionados às características metabólicas das células cancerígenas (DEBERARDINIS; CHANDEL, 2016; MARTINEZ-OUTSCHOORN et al., 2017; LUENGO; GUI; VANDER HEIDEN, 2017).

1.2 TRATAMENTO

O sucesso no tratamento do câncer está diretamente associado ao diagnóstico precoce e à escolha de estratégias terapêuticas adequadas, incluindo abordagens como cirurgia, quimioterapia, radioterapia e terapias direcionadas, as quais podem contribuir significativamente para melhores desfechos clínicos (WHO, 2022; ZHAO et al., 2020).

O avanço no entendimento da complexidade e da heterogeneidade biológica do câncer possibilitou o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e individualizados, considerando as características específicas de cada tumor e de seus mecanismos moleculares. Nas últimas décadas, importantes avanços na pesquisa oncológica permitiram a identificação e o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos capazes de atuar em alvos específicos envolvidos na progressão tumoral. Atualmente, existem várias classes de quimioterápicos

baseados em antimetabólitos, agentes alquilantes, elementos imunológicos, componentes hormonais ou antimitóticos (SAMAAN et al., 2019; ABOTALEB et al., 2018)

Os quimioterápicos antimitóticos são uma opção de tratamento altamente validada que reduz a proliferação e invasão de células cancerígenas por meio da modulação da divisão celular mediada pela alteração da função dos microtúbulos, consequentemente, a modificação dos microtúbulos leva à parada do ciclo celular e subsequente apoptose celular. Os inibidores dos microtúbulos representam dois grupos de medicamentos: sintéticos e naturais. Dentre os agentes antimitóticos amplamente utilizados, destaca-se o paclitaxel (PTX), um fármaco natural extraído da casca da árvore *Taxus brevifolia*, que se consolidou no tratamento de diversos tipos de neoplasias. Trata-se de um medicamento amplamente utilizado, reconhecido por apresentar uma potente atividade como agente único. (SAMAAN et al., 2019; BISWAS et al., 2012).

O PTX promove a formação e a estabilização dos microtúbulos, interferindo em processos celulares essenciais, incluindo a mitose, o transporte celular e a motilidade celular e é frequentemente empregado como tratamento de primeira escolha no câncer de mama metastático e em estágio inicial, mas também pode ser utilizado para tratar tumores sólidos, como câncer de ovário, câncer de próstata refratário a hormônios e câncer de pulmão de células não pequenas. Devido à alta demanda pelo medicamento, a árvore *T. brevifolia* de crescimento lento não foi capaz de atender às necessidades do mercado e da pesquisa, e concluiu-se que a produção de PTX a partir de *T. brevifolia* era impraticável, não ambientalmente consciente e financeiramente onerosa, de acordo com o National Cancer Institute (NCI). Em 1993, um novo método de produção em massa de PTX foi associado a um fungo isolado do floema de *T. brevifolia*. Em 1994, uma abordagem semissintética bem-sucedida de síntese de PTX foi formulada e aprovada pelo FDA (Food and Drug Administration), que é o método de produção até hoje. (DAS et al., 2021; SAMAAN et al., 2019; PAN; AVILA; GOLLAHON, 2014)

No entanto, sua aplicação clínica ainda enfrenta obstáculos. Devido a sua baixa solubilidade em água, o PTX exige o uso de formulações específicas, como o Taxol, que utiliza Cremophor EL como solvente, um óleo de mamona polietoxilado, e etanol, na proporção de 1:1. Contudo, foi observado que este material está associado a reações adversas, como reações de hipersensibilidade mediadas por histamina, neuropatia sensorial ou comprometimento da administração do medicamento, bem como limitação de sua eficácia. A hipersensibilidade ao PTX, inclui dispneia, broncoespasmo, urticária, rubor, erupção cutânea eritematosa, hipotensão, angioedema, dor no peito, dor abdominal, febre ou calafrios, geralmente é visível nos primeiros dez minutos da administração do medicamento (ZHOU et al., 2013; MA, 2013; BISWAS et al., 2012).

Além disso, a administração convencional de quimioterápicos na forma livre pode resultar em distribuição sistêmica não específica, reduzindo a concentração do fármaco nos tecidos tumorais e aumentando os efeitos colaterais. Diante dessas limitações, surgiu uma necessidade de desenvolver sistemas de liberação de fármacos capazes de reduzir os efeitos adversos da quimioterapia e, simultaneamente, melhorar seu perfil terapêutico. Novidades como o PTX ligado à albumina (nab-PTX) são exemplos impressionantes do progresso na área associada à oncologia focada na conexão cruzada da nanotecnologia e do tratamento do câncer (MAHTANI et al., 2018; ZHOU et al., 2013; HERR; DEBATIN, 2001).

Neste cenário, a nanotecnologia tem emergido como uma estratégia promissora para otimizar a detecção e o tratamento do câncer, principalmente por meio do direcionamento preciso de agentes terapêuticos às células tumorais. As nanopartículas (NPs) são estruturas de escala submicrométrica com propriedades físico-químicas variadas, podendo ser classificadas conforme seu tamanho, morfologia, composição (polimérica, lipídica ou inorgânica), potencial zeta e origem (natural ou sintética). Por atuarem na interface entre as ciências biológicas e físicas, as NPs vêm sendo amplamente aplicadas em diversas áreas, incluindo medicina, agricultura e eletrônica. No campo biomédico, a nanobiotecnologia tem desempenhado um papel crucial no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e de diagnóstico (SUKHANOVA et al., 2018; JAIN, JAIN, MAHAJAN, 2015; SUTRADHAR; AMIN, 2014; ELSABAHY, WOOLEY, 2013; REIS, NEUFELD, 2006).

As associações com NPs mostraram ser um efetivo sistema de entrega de medicamentos, tendo como principal objetivo o direcionamento da substância ao tecido ou célula alvo, melhorando a sua absorção, biodisponibilidade e diminuindo os efeitos tóxicos. (BERNARDY et al., 2010; ELSABAHY; WOOLEY, 2013; JAIN; JAIN; MAHAJAN, 2015; ULBRICH et al., 2016). O pequeno tamanho das NPs permite que elas atravessem barreiras epiteliais e endoteliais. Assim, podem chegar à corrente sanguínea e ao sistema linfático, sendo distribuídas a diferentes órgãos e tecidos, incluindo o cérebro, coração, fígado, rins, entre outros (SINGH; LILLARD, 2009). Uma vez no tecido, são transportadas para as células por mecanismos de transcitose ou simplesmente difundidas através da membrana celular. Elas podem ainda, extravasar através de tumores e penetrar microcapilares (FORNAGUERA et al., 2015).

As propriedades únicas das nanopartículas permitem ainda a possibilidade de funcionalização com o intuito de direcionar e melhorar a sua captação, permitindo a sua aplicação em diferentes áreas, dependendo da sinergia entre as características estruturais e físico-químicas dos materiais utilizados e do alvo desejado. Neste contexto, a descoberta das vesículas lipídicas desempenhou um papel significativo nos sistemas de administração de

medicamentos, abrindo caminho para a formulação de medicamentos potentes, melhorando sua biodisponibilidade e, assim, proporcionando uma melhor terapêutica. (YU et al., 2021; YE et al., 2019)

As nanopartículas à base de lipídios despertam particular interesse devido às suas características de tamanho, forma e química de superfície, que podem ser facilmente modificadas. As formulações lipossômicas podem encapsular tanto drogas hidrofílicas quanto hidrofóbicas, garantindo, assim, a associação eficiente com diferentes tipos de medicamentos. Os transportadores lipossômicos são amplamente usados para no tratamento de diferentes doenças, incluindo distúrbios oculares, doenças neurológicas, como Alzheimer e Parkinson, e na terapia antitumoral. Entre várias aplicações, esses transportadores ganharam importância na terapia anticâncer devido à sua possibilidade de ligação para atingir especificamente os tumores por meio da conjugação com os respectivos anticorpos, peptídeos ou carboidratos, que agem como direcionadores moleculares. (YANG; LI; GU; FAN, 2021; MICHELETTTO et al., 2015)

Nos últimos anos, diversos estudos demonstraram que a incorporação de polímeros à bicamada lipídica pode aumentar a estabilidade coloidal das vesículas. Entre esses polímeros, o polietilenoglicol (PEG) e seus derivados apresentam ampla aplicação nos campos biológico, químico e farmacêutico, principalmente em razão de sua elevada solubilidade em meios aquosos e orgânicos, flexibilidade estrutural e, de modo geral, baixa toxicidade. O PEG também pode ser utilizado como modificador covalente de diferentes moléculas e superfícies, originando conjugados que combinam propriedades do polímero e do substrato original. Quando incorporado à superfície de lipossomas, o PEG forma uma camada hidrofílica que reduz interações inespecíficas com proteínas plasmáticas e dificulta o reconhecimento pelo sistema mononuclear fagocitário. Como consequência, os lipossomas PEGuilados podem apresentar maior tempo de circulação sanguínea e menor captação pelo fígado e pelo baço (ALLEN et al., 1991; KNOP et al., 2010; MICHELETTTO et al., 2015).

Nesse contexto, copolímeros anfífilicos contendo carboidratos, com arquiteturas enxertadas ou em bloco, têm recebido atenção como componentes de sistemas destinados à liberação direcionada de fármacos. Anfífilicos glicosilados podem ser incorporados às vesículas lipídicas para expor resíduos de carboidratos em sua superfície, possibilitando interações específicas com lectinas. Essas proteínas reconhecem estruturas glicídicas e glicoconjugados, desempenhando funções em diferentes processos de reconhecimento molecular e celular. Estudos com vesículas constituídas por fosfatidilcolina e pelo anfífilico glicosilado C₂₂PEG₉₀₀GlcNAc demonstraram a formação de estruturas estáveis, com carboidratos disponíveis na superfície e capazes de interagir com lectinas. Portanto, a avaliação de

propriedades como tamanho, potencial zeta, organização molecular, estado de fase e mobilidade dos componentes é fundamental para compreender o comportamento desses nanocarreadores e aperfeiçoar sua capacidade de vetorização direcionada (MICHELETTO et al., 2015; DOS SANTOS et al., 2016).

Como se sabe as células cancerígenas apresentam elevada demanda por nutrientes para sustentar sua proliferação e suas necessidades bioenergéticas e biossintéticas, frequentemente acompanhada pelo aumento da captação de glicanos. (BROWN; WAHL, 1993; LUENGO; GUI; VANDER HEIDEN, 2017). Nesse contexto, a *N*-acetil-D-glicosamina (GlcNAc), tem sido investigada como ligante para a funcionalização de nanocarreadores destinados à liberação direcionada de fármacos. Tian et al. (2015) desenvolveram nanopartículas poliméricas funcionalizadas com GlcNAc e carregadas com doxorubicina e observaram, por microscopia confocal e citometria de fluxo, maior internalização celular e capacidade de direcionamento em comparação com nanopartículas não funcionalizadas. Nas linhagens MCF-7, de câncer de mama, e HT29, de câncer colorretal, as nanopartículas funcionalizadas também apresentaram maior atividade antitumoral *in vitro*. Esses achados indicam o potencial da GlcNAc como ligante para aumentar a interação e a internalização celular de nanocarreadores (TIAN et al., 2015).

Diante desse contexto, este trabalho tem o objetivo de desenvolver estratégias que aumentem a seletividade e a eficácia do paclitaxel no tratamento do câncer de mama. A funcionalização de lipossomas com *N*-acetilglicosamina (GlcNAc) pode favorecer interações preferenciais entre os nanocarreadores e as células tumorais por meio do reconhecimento mediado por carboidratos, contribuindo para o aprimoramento da atividade biológica da formulação e para a redução das limitações associadas à administração convencional do fármaco.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial como terapia antitumoral de lipossomas funcionalizados com N-acetilglucosamina (GlcNAc) e associados ao paclitaxel (PTX) em células de câncer de mama MCF-7.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obter formulações lipossomais a base de fosfatidilcolina contendo ou não PTX, e funcionalizadas ou não com N-acetilglucosamina (GlcNAc);
2. Caracterizar as formulações lipossomais quanto ao diâmetro hidrodinâmico, ao índice de polidispersidade (PDI) e do potencial zeta (PZ);
3. Avaliar a biocompatibilidade dos lipossomas vazios, funcionalizados ou não com GlcNAc, em células de adenocarcinoma mamário humano MCF-7 e fibroblastos dérmicos humanos FC-0024;
4. Avaliar o efeito citotóxico do PTX livre e das formulações contendo PTX, funcionalizadas ou não com GlcNAc, em células MCF-7 e FC-0024;
5. Comparar a atividade citotóxica do PTX livre, dos lipossomas carregados com PTX e dos lipossomas funcionalizados com GlcNAc e carregados com PTX, em concentrações equivalentes do fármaco;
6. Comparar a atividade citotóxica dos lipossomas carregados com PTX, funcionalizados ou não com GlcNAc, após períodos de exposição de curta e longa duração;
7. Comparar a atividade das formulações contendo paclitaxel funcionalizadas e não funcionalizadas com GlcNAc, visando investigar a contribuição da funcionalização na atividade antitumoral.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 SÍNTESE DOS LIPOSSOMAS

3.1.1 Purificação da lecitina de soja

Para a obtenção da fosfatidilcolina (PC), a lecitina de soja foi purificada de acordo com a literatura. Para isso, 10 g de lecitina de soja foram dissolvidos em 50 mL de acetato de etila (Sigma–Aldrich), sob agitação, e 2 mL de água ultrapura (Milli-Q) foram adicionados gota a gota, resultando na formação de duas fases. A fase superior foi separada da fase em gel e descartada. Posteriormente, o gel foi disperso, por duas vezes, em 50 mL de acetona, e os aglomerados resultantes foram triturados com o auxílio de um bastão de vidro. Em seguida, a acetona foi removida. O precipitado foi filtrado a vácuo e seco em dessecador, resultando em uma massa final de 4 g. Os procedimentos de purificação foram monitorados por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas pré-revestidas com sílica gel 60 F254 (E. Merck, Darmstadt) e uma fase móvel composta por clorofórmio, metanol e água ultrapura (Milli-Q), na proporção de 6,5:2,5:0,4. As placas foram reveladas em atmosfera saturada de iodo. Fosfatidilcolina de alta pureza, fornecida pela indústria, foi utilizada como padrão para comparação.

3.1.2 Preparação das vesículas

Os lipossomas carregados com PTX (PC + C22PEG900GlcNAc) foram preparados pelo método de evaporação em fase reversa, conforme descrito anteriormente em Micheletto et al., 2015. O fármaco PTX foi encapsulado durante a etapa hidrofóbica da preparação dos lipossomas, utilizando clorofórmio. As amostras de lipossomas constituídas por estruturas auto-organizadas entre PC e C22PEG900GlcNAc (PC + C22PEG900GlcNAc), na proporção PC:C22PEG900GlcNAc de 80:20 (m/m), foram solubilizadas em 5 mL de clorofórmio. A mistura foi sonicada por 2 min, a 25 °C, em sonificador com potência máxima de 180 W, produzindo uma dispersão homogênea e opalescente de micelas reversas. O clorofórmio foi evaporado sob vácuo em evaporador rotativo, a 30 °C, com rotação de 180 rpm e pressão de 380 bar, resultando em um organogel viscoso. O procedimento foi utilizado para produzir quatro nanopartículas diferentes: Pura (apenas PC), PC + Fármaco (12 mg.mL⁻¹ de PC + 1 mg.mL⁻¹ de PTX), PC + C22PEG900GlcNAc (12 mg.mL⁻¹) e PC + C22PEG900GlcNAc +

PTX funcionalizada (12 mg.mL^{-1} de PC + C22PEG900GlcNAc contendo 1 mg.mL^{-1} de PTX). A solução foi filtrada (filtros da GE Healthcare Life Sciences, filtros de membrana de náilon Whatman®, poros de $0,45 \text{ }\mu\text{m}$) para remover possíveis agregados grandes. Após a síntese, os lipossomas foram liofilizados e ressuspensos antes do uso. Após a ressuspensão, as amostras foram tratadas com 4% do antibiótico penicilina/estreptomicina (P/S) e sonizadas por 10 minutos.(Micheletto et al., 2015).

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

O diâmetro médio e a distribuição do tamanho das partículas das formulações foram determinados utilizando a técnica de espalhamento dinâmico de luz (Dynamic Light Scattering – DLS), empregando o analisador de tamanho de partículas Brookhaven NanoBrook OMNI Particle Size Analyzer (Brookhaven Instrument Corporation, NY, EUA). As medidas de tamanho das partículas foram realizadas a $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, após diluição adequada das amostras em PBS. O raio hidrodinâmico foi determinado utilizando a equação de Stokes–Einstein.

As análises por espalhamento de luz eletroforético (Electrophoretic Light Scattering – ELS) foram utilizadas para determinar o potencial zeta médio dos compostos. As formulações foram diluídas em água na proporção 1:30, e as medições foram realizadas a 25°C . Ambas as análises (DLS e ELS) foram realizadas utilizando o equipamento NanoBrook Omni (Brookhaven Instrument Corporation, NY, EUA). Foram realizadas dez medições em triplicata para cada amostra, a fim de obter os valores médios e o desvio padrão (DP). Após a ressuspensão, as amostras foram submetidas à sonicação e a distribuição do tamanho das partículas foi novamente determinada por DLS utilizando o analisador NanoQ (Cordouan Technologies SAS, França).

3.3 CULTURA CELULAR E ENSAIO DE VIABILIDADE

Células de adenocarcinoma mamário humano (MCF-7) e fibroblastos dérmicos adultos primários humanos (FC-0024), adquiridos da ATCC, foram cultivados em Meio Essencial Mínimo de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de penicilina/estreptomicina (P/S). Ambas as linhagens celulares foram incubadas em condições de cultivo, a $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$, em atmosfera umidificada contendo 5% de CO_2 . As células foram semeadas com confluência de 60% em placas de 96 poços com paredes opacas e incubadas. Para o ensaio de citotoxicidade, após 24 h, as células foram tratadas com diferentes

concentrações dos lipossomas (0,01 µg/mL; 0,05 µg/mL; 0,1 µg/mL; 0,5 µg/mL; 1 µg/mL; 5 µg/mL; 10 µg/mL; 50 µg/mL; 100 µg/mL) e incubadas por 72 h. A concentração correspondente de PTX está apresentada na Tabela 1. Para os efeitos após períodos curtos de exposição, as células foram expostas a diferentes concentrações do tratamento (5 µg/mL; 10 µg/mL; 50 µg/mL) por 3 h e 5 h; posteriormente, o meio foi removido e substituído, e as células foram incubadas por 72 h. A concentração de 5 µg/mL também foi avaliada 24 h e 48 h após o tratamento. Para avaliar a viabilidade celular, foi realizado o ensaio CellTiter-Glo®. O substrato CellTiter-Glo® foi reconstituído em temperatura ambiente e adicionado na quantidade de 100 µL/poço. O conteúdo foi misturado por 2 minutos em agitador orbital para induzir a lise celular e incubado em temperatura ambiente por 10 minutos para estabilizar o sinal luminescente. Em seguida, a luminescência foi medida utilizando um leitor multimodo de microplacas Varioskan LUX (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Os experimentos foram realizados em triplicata para cada condição, e os resultados foram expressos como porcentagem de células vivas em comparação ao controle (células não tratadas).

Tabela 1 - Doses equivalentes de paclitaxel para as concentrações de lipossomas testadas.

Concentração									
Lipossoma (µg/mL)	0.01	0.05	0.10	0.50	1	5	10	50	100
PTX equivalente	0.98nM	4.88 nM	9.76 nM	48.8 nM	97.6 nM	488 nM	976 nM	4.88µM	9.75µM

Fonte: Do Autor,2026.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados são apresentados como média ± desvio-padrão (DP). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o GraphPad Prism (versão 10; GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). As diferenças entre os grupos foram analisadas por análise de variância de duas vias (ANOVA de duas vias) com pós-teste de Tukey. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS LIPOSSOMAS

As formulações lipossomais foram definidas da seguinte forma: Lipo (lipossoma puro), Lipo-GlcNAc (lipossomas funcionalizados com GlcNAc), Lipo-PTX (lipossomas carregados com paclitaxel) e Lipo-GlcNAc-PTX (lipossomas funcionalizados com GlcNAc e carregados com paclitaxel).

A síntese dos lipossomas e os testes de citotoxicidade foram realizados em instalações diferentes, por esse motivo, a distribuição de tamanho foi determinada antes da liofilização e após a ressuspensão. a fim de avaliar o efeito do processamento sobre a estabilidade das formulações. Os resultados iniciais foram os seguintes:

Tabela 2 - Caracterização físico-química após a síntese.

Amostra	Antes da liofilização			Após a liofilização	
	(d _h , nm)	PDI	Potencial zeta (mV)	(d _h , nm)	PDI
Lipo	202.7	0.176	-62.87	152.8 ± 9.0	0.467 ± 0.024
Lipo – GlcNAc	219.10	0.268	-64.90	180.0 ± 5.0	0.417 ± 0.007
Lipo – PTX	148.14	0.213	-44.34	116.2 ± 0.2	0.214 ± 0.006
Lipo-GlcNAc-PTX	199.58	0.209	-48.38	104.7 ± 1.1	0.261 ± 0.007

Fonte: Do Autor, 2026.

Descrição: Antes da liofilização: diâmetro hidrodinâmico (d_h), índice de polidispersidade (PDI) e potencial zeta (PZ) das formulações lipossomais medidos imediatamente após a síntese, utilizando um equipamento Brookhaven. Após a liofilização: d_h e PDI das formulações lipossomais medidos após a liofilização, ressuspensão e sonicação, utilizando um equipamento NanoQ (Cordouan Technologies). O d_h corresponde à média Z obtida pela análise de cumulantes. Os valores são expressos como média ± desvio-padrão (n = 3). Ambas as medições foram realizadas utilizando dois equipamentos diferentes de espalhamento dinâmico de luz (DLS); contudo, ambos operam segundo o mesmo princípio e foram utilizados para avaliar alterações relativas na distribuição do tamanho das partículas.

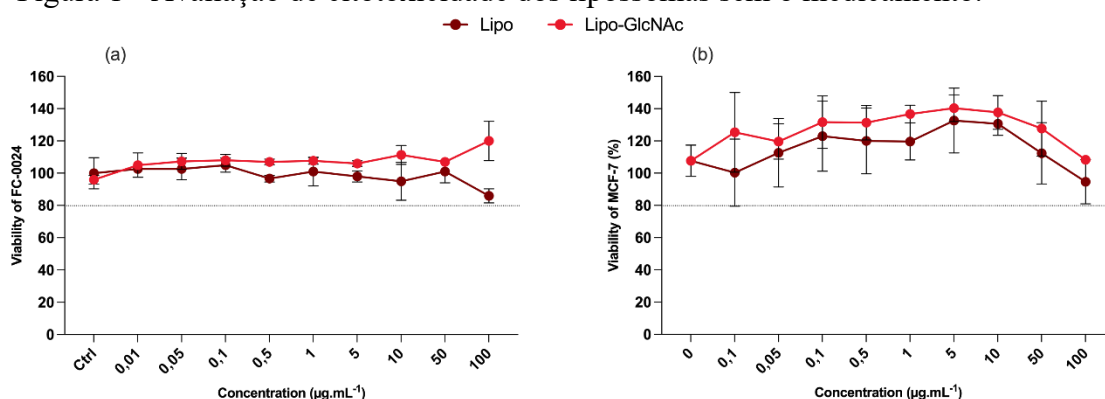
A caracterização físico-química das formulações lipossomais revelou perfis distintos antes e após o processamento. Imediatamente após a síntese, todas as formulações apresentaram diâmetros hidrodinâmicos na faixa nanométrica (~148–219 nm), com valores de PDI relativamente baixos (0,176–0,268), indicando populações homogêneas. Os elevados valores negativos de potencial zeta (–44 a –65 mV) sugerem forte estabilização eletrostática, particularmente para os lipossomas puros e funcionalizados com GlcNAc (Tabela 2). Entre as formulações, a incorporação de paclitaxel resultou em menor diâmetro hidrodinâmico (148,14 nm).

Após a liofilização, a ressuspensão e a sonicação, observou-se uma redução geral do diâmetro hidrodinâmico em todas as formulações, acompanhada por um aumento do PDI, indicando reorganização estrutural e maior heterogeneidade dos sistemas (Tabela 2). Apesar desse efeito, as formulações lipossomais contendo paclitaxel, particularmente o sistema funcionalizado com GlcNAc, mantiveram tamanhos próximos a 100 nm ($104,7 \pm 1,1$ nm), com polidispersidade moderada ($PDI = 0,261 \pm 0,007$), sugerindo a preservação da integridade coloidal após o processamento. Em contraste, os lipossomas Lipo e Lipo-GlcNAc apresentaram valores de PDI mais elevados ($>0,4$), indicando distribuições de tamanho mais amplas e perda parcial da homogeneidade de tamanho, o que pode ser esperado após a liofilização. De modo geral, esses resultados demonstram que, embora o processamento afete a distribuição de tamanho, as formulações carregadas com paclitaxel mantêm características físico-químicas adequadas para avaliações biológicas posteriores.

4.2 CULTURA CELULAR E ENSAIO DE VIABILIDADE

Foi realizado um estudo de citotoxicidade para avaliar o potencial terapêutico dos lipossomas carregados com paclitaxel em células de câncer de mama humano e em fibroblastos saudáveis. A viabilidade celular foi avaliada 72 h após o tratamento com concentrações crescentes das formulações (Figura 1). Não foram observados efeitos citotóxicos de Lipo e Lipo-GlcNAc em nenhum dos tipos celulares, demonstrando a biocompatibilidade do carreador lipídico.

Figura 1 - Avaliação de citotoxicidade dos lipossomas sem o medicamento.



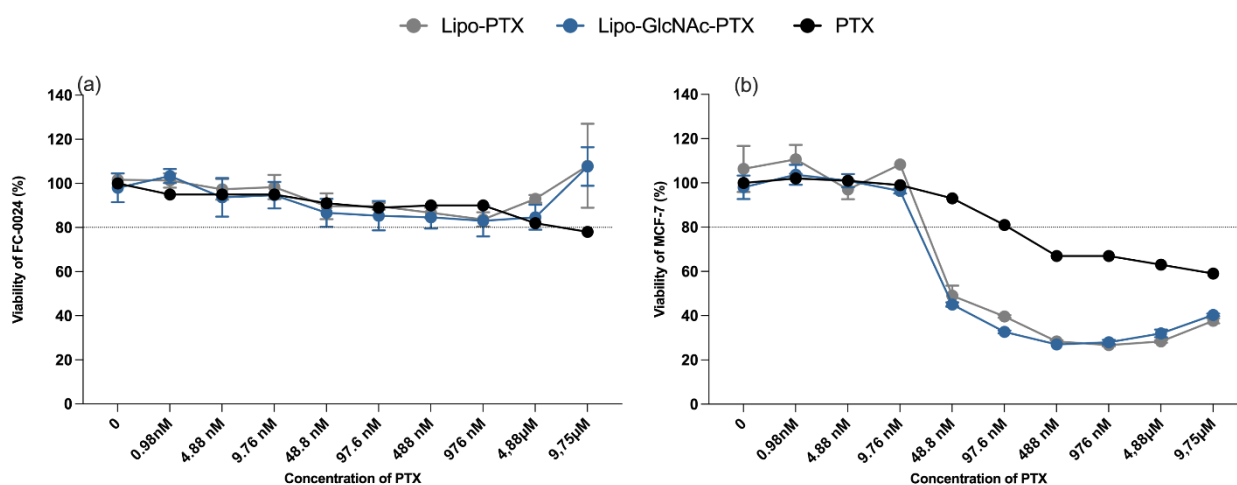
Fonte: Do Autor, 2026.

Descrição: Estudo de citotoxicidade de lipossomas puros (Lipo) e funcionalizados (Lipo-GlcNAc), em diferentes concentrações, em (a) fibroblastos (FC-0024) e (b) células de câncer de mama humano (MCF-7), utilizando CellTiter-Glo®, de acordo com a ANOVA de duas vias.

Por outro lado, foi observado um efeito citotóxico pronunciado de Lipo-PTX e Lipo-GlcNAc-PTX nas células MCF-7, mas não nos fibroblastos, sugerindo atividade antitumoral seletiva (Figura 2). Para Lipo-PTX, a viabilidade celular diminuiu para aproximadamente 45% na concentração de 0,5 $\mu\text{g/mL}$, atingindo aproximadamente 37,6% na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ nas células MCF-7. O efeito citotóxico máximo foi observado em 10 $\mu\text{g/mL}$, com 26,6% de células viáveis. Para Lipo-GlcNAc-PTX, a viabilidade celular diminuiu de 96% para 45% na concentração de 0,5 $\mu\text{g/mL}$. A citotoxicidade máxima foi observada na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$, com 27% de viabilidade.

Além disso, em concentrações equivalentes de PTX, tanto os lipossomas convencionais quanto os funcionalizados com GlcNAc produziram citotoxicidade significativamente maior do que o PTX livre, indicando que a encapsulação lipossomal aumentou a atividade antitumoral do fármaco. Não foi observada diferença significativa na citotoxicidade entre Lipo-PTX e Lipo-GlcNAc-PTX em nenhuma das doses testadas, embora ambas as formulações tenham alcançado elevado efeito citotóxico (Figura 2b).

Figura 2 - Avaliação da citotoxicidade dos lipossomas carregados com o PTX.



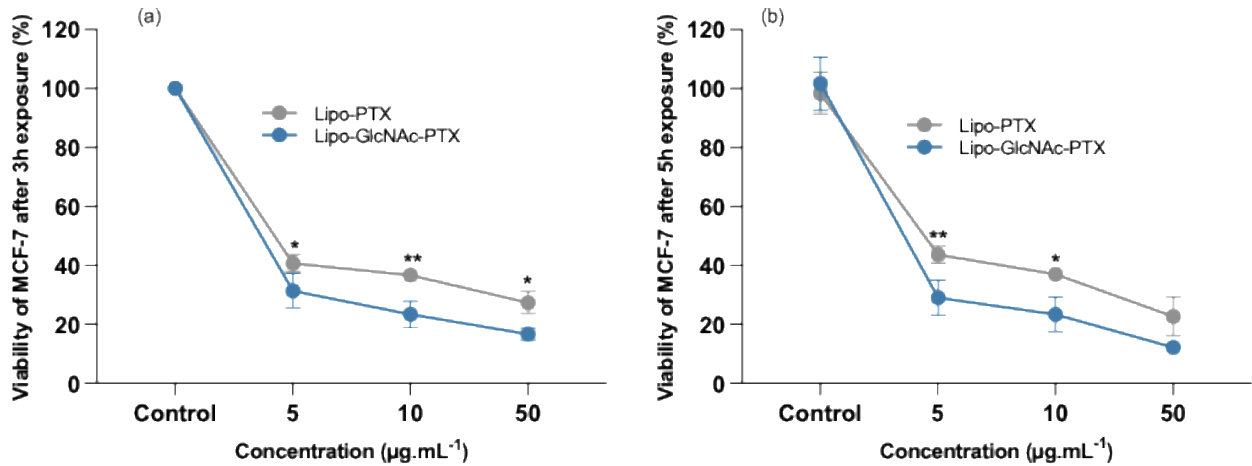
Fonte: Do Autor, 2026.

Descrição: Estudo de citotoxicidade de diferentes concentrações de lipossomas carregados com paclitaxel e de lipossomas funcionalizados carregados com paclitaxel em células MCF-7 e FC-0024, 72 horas após o tratamento, utilizando CellTiter-Glo®.

Para investigar as interações celulares nas primeiras horas de tratamento, os efeitos citotóxicos de Lipo-PTX e Lipo-GlcNAc-PTX foram avaliados após exposição de curta duração (3 e 5 h), com a viabilidade celular avaliada 72 h após o início do tratamento (Figura 3). Ambas as formulações induziram redução significativa da viabilidade celular em todas as concentrações testadas (5, 10 e 50 $\mu\text{g/mL}$), em comparação ao controle, após 3 h e 5 h de

exposição (Figuras 3a e 3b). Observou-se maior redução da viabilidade em 5 h, particularmente na concentração mais elevada (50 µg/mL), indicando aumento do efeito citotóxico dependente do tempo.

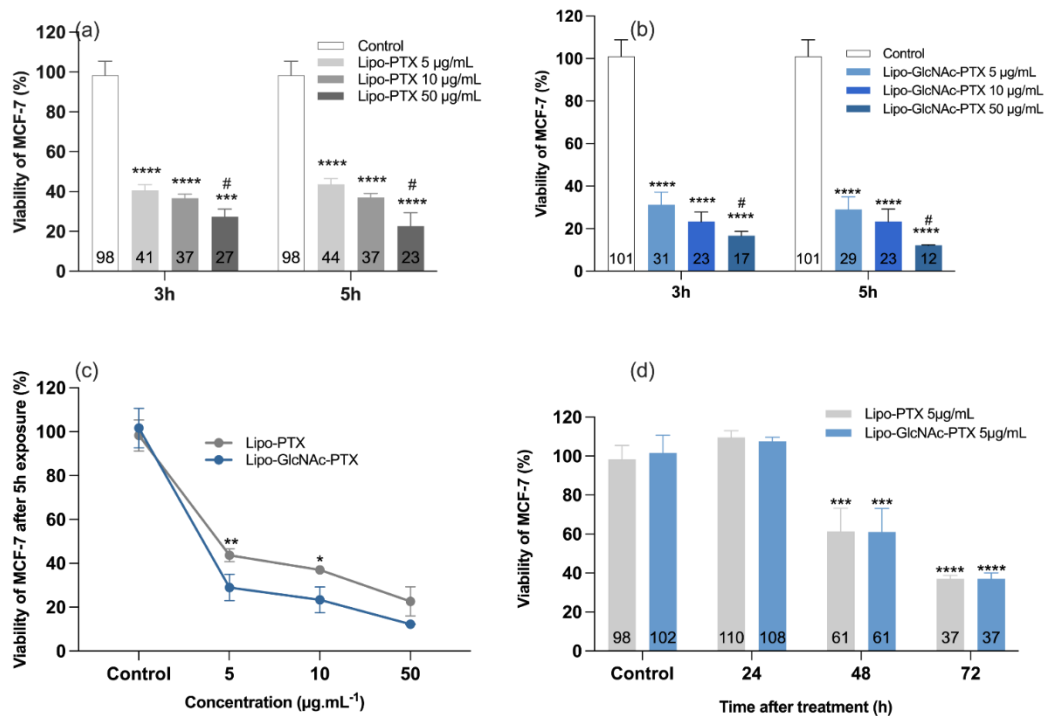
Figura 3 – Avaliação da citotoxicidade dos lipossomos carregados com PTX após curta exposição.



Fonte: Do Autor, 2026

Descrição: Citotoxicidade de lipossomas carregados com paclitaxel (Lipo-PTX) e lipossomas carregados com paclitaxel funcionalizados com GlcNAc (Lipo-GlcNAc-PTX) em células MCF-7 após 3 h (a) ou 5 h (b) de tratamento. A viabilidade celular foi determinada 72 h após o tratamento utilizando o ensaio CellTiter-Glo. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão. A significância estatística foi determinada por ANOVA de duas vias (*p < 0,05; **p < 0,01) na comparação entre as formulações.

Figura 4 - Avaliação comparativa da citotoxicidade das diferentes formulações lipossomais.



Fonte: Do Autor, 2026

Uma comparação direta entre as formulações mostrou que a Lipo-GlcNAc-PTX apresentou citotoxicidade aumentada em relação à Lipo-PTX nas concentrações de 5 µg/mL e 10 µg/mL, com diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Notavelmente, na concentração de 5 µg/mL, a viabilidade celular diminuiu de aproximadamente 44% para a Lipo-PTX para 29% para a Lipo-GlcNAc-PTX, indicando uma eficiência citotóxica superior em concentrações mais baixas.

Por fim, para compreender melhor a evolução temporal da citotoxicidade, a viabilidade celular foi avaliada em diferentes períodos, utilizando-se a concentração fixa de 5 µg/mL (Figura 4d). Nesse contexto, observou-se uma redução progressiva da viabilidade celular para ambas as formulações a partir de 48 h, sendo esse efeito mais acentuado após 72 h. Em conjunto, esses resultados demonstram que a citotoxicidade das formulações é dependente do tempo de exposição.

5. DISCUSSÃO

Neste trabalho, foram avaliados os efeitos *in vitro* de lipossomas associados ao GlcNAc para direcionamento do PTX. Para alcançar uma administração eficiente do fármaco, os lipossomas devem apresentar características físico-químicas adequadas, incluindo tamanho apropriado, elevada homogeneidade e boa estabilidade coloidal. Em conjunto, essas propriedades determinam o desempenho das formulações, influenciando diretamente o tempo de circulação, a captação celular, a biodistribuição e, consequentemente, a eficácia terapêutica (DANAEI et al., 2018; LOMBARDO et al., 2019).

De modo geral, as formulações lipossomais mantiveram características compatíveis com sistemas lipossomais destinados à administração de fármacos. Para essa finalidade, lipossomas com diâmetros entre 50 e 200 nm, particularmente próximos de 100–150 nm, são geralmente preferidos, pois tendem a apresentar circulação prolongada, uma vez que são removidos da corrente sanguínea mais lentamente do que partículas maiores. Essa faixa de tamanho também pode favorecer a penetração tecidual e o acúmulo tumoral associado ao efeito de permeabilidade e retenção aumentadas (EPR). Entretanto, deve-se considerar que a magnitude desse efeito é heterogênea e depende das características do tipo tumoral (ANDRA et al., 2022; MARITIM et al., 2021; NÉMETH et al., 2022).

Tão importante quanto o tamanho médio é a homogeneidade do sistema. As distribuições de tamanho são consideradas homogêneas quando o PDI é $\leq 0,30$, enquanto valores $\leq 0,20$ indicam formulações altamente uniformes, especialmente no caso de vesículas fosfolipídicas. Lipossomas nanométricos otimizados geralmente apresentam valores de PDI entre 0,10 e 0,20, ao passo que valores superiores a 0,40 sugerem populações heterogêneas e possível agregação, como observado para as formulações Lipo e Lipo-GlcNAc após a ressuspensão. Em sistemas lipossomais, essas propriedades podem ser afetadas pela liofilização e pelas condições de armazenamento, mesmo quando não são observadas alterações expressivas no tamanho médio. Além disso, temperaturas mais elevadas de armazenamento podem aumentar significativamente o tamanho das partículas e, possivelmente, o PDI, em razão do aumento da fluidez da membrana lipídica (CORTE-REAL et al., 2024; DANAEI et al., 2018; NANDA et al., 2019; NÉMETH et al., 2022; ZHAO et al., 2020).

A carga superficial constitui outro importante indicador da estabilidade, afetando tanto a dispersão coloidal quanto as interações biológicas. Valores absolutos elevados de PZ promovem maior repulsão eletrostática entre as partículas e, consequentemente, reduzem a possibilidade de agregação. Além disso, a carga superficial pode modular as interações com as

membranas celulares, a captação celular, o tempo de circulação e a toxicidade das formulações (NÉMETH et al., 2022). Embora lipossomas altamente carregados geralmente apresentem maior estabilidade coloidal, formulações neutras ou negativamente carregadas, como as obtidas neste estudo, com valores entre -44 e -65 mV, são frequentemente consideradas favoráveis para a administração sistêmica, pois podem reduzir interações inespecíficas e prolongar a circulação sanguínea (CORTE-REAL et al., 2024).

Apesar da ausência de medidas do potencial-zeta após a liofilização e a ressuspensão, as formulações apresentaram redução do diâmetro hidrodinâmico, enquanto Lipo-PTX e Lipo-GlcNAc-PTX mantiveram valores de PDI relativamente baixos, indicando uma distribuição de tamanho mais estreita. Uma vez que alterações acentuadas na carga superficial podem favorecer a agregação e ampliar a distribuição de tamanho das partículas, esses achados sugerem que o processamento não comprometeu substancialmente a estabilidade coloidal das formulações contendo PTX. Estudos anteriores também indicam que a liofilização pode contribuir para a preservação das propriedades eletrostáticas dos lipossomas ao formar uma matriz rígida, reduzindo a mobilidade molecular e a agregação decorrente de flutuações de carga. Contudo, medidas diretas do potencial zeta após a ressuspensão seriam necessárias para confirmar a preservação da carga superficial (FRANZÉ et al., 2018; NIJHAWAN et al., 2024).

Além de sua contribuição para a estabilidade coloidal, a funcionalização com GlcNAc pode influenciar a organização da membrana lipossomal por meio da incorporação de glicolípídios anfífilos. Conforme descrito detalhadamente por Micheletto et al. (2015), o anfífilico C22PEG900-GlcNAc é capaz de formar vesículas estáveis, exercendo efeitos pouco expressivos sobre o tamanho e a morfologia. Entretanto, os efeitos do carregamento de PTX sobre as propriedades físico-químicas dessa formulação ainda não haviam sido explorados.

Nesse sentido, os resultados deste estudo demonstraram que os lipossomas contendo PTX apresentaram maior resistência às alterações induzidas pela liofilização e pela ressuspensão do que as formulações sem o fármaco. Antes da liofilização, os lipossomas carregados com PTX apresentaram diâmetros hidrodinâmicos entre 148 e 200 nm. Esse resultado está de acordo com estudos anteriores, os quais demonstram que o PTX pode ser incorporado com sucesso em lipossomas de diferentes tamanhos, dependendo da composição lipídica e do método de preparação, sem necessariamente provocar uma alteração previsível no diâmetro das vesículas (JARADAT et al., 2023). Mais importante, após a liofilização e a ressuspensão, as formulações contendo PTX preservaram uma distribuição de tamanho relativamente estreita, com valores de PDI entre 0,214 e 0,261, enquanto os lipossomas sem o fármaco apresentaram aumento acentuado desse parâmetro, alcançando valores entre 0,417 e

0,467. Esse comportamento sugere que a incorporação do PTX pode ter contribuído para a manutenção da integridade da bicamada durante o processamento. Como o PTX se distribui na região hidrofóbica da membrana fosfolipídica, sua incorporação pode reorganizar o empacotamento lipídico e favorecer a formação de uma bicamada mais ordenada, em vez de simplesmente alterar o tamanho das vesículas, conforme observado por outros autores (MONTEIRO et al., 2018). Essa possível estabilização da membrana pode ter reduzido o rearranjo dos lipídios, a fusão das vesículas e a agregação durante o congelamento e a reidratação, explicando a maior estabilidade coloidal das formulações carregadas com PTX.

Por fim, embora os lipossomas contendo PTX tenham apresentado valores de potencial zeta ligeiramente mais negativos, todas as formulações permaneceram fortemente carregadas negativamente. Esse resultado indica que a carga superficial foi determinada predominantemente pela composição lipídica e pela presença do anfifílico C22PEG900-GlcNAc, e não exclusivamente pela incorporação do PTX. No entanto, conforme mencionado anteriormente, medidas adicionais do potencial zeta após a liofilização e a ressuspensão seriam necessárias para confirmar a preservação dessa tendência.

Quanto à avaliação da citotoxicidade nas células tumorais MCF-7 e nos fibroblastos FC-0024, não foram observados efeitos citotóxicos após o tratamento com Lipo e Lipo-GlcNAc em nenhuma das linhagens celulares avaliadas. Esses resultados demonstram a biocompatibilidade do carreador lipídico e indicam que a incorporação do anfifílico contendo GlcNAc não provocou toxicidade significativa nas condições experimentais empregadas, conforme também sugerido pela literatura para sistemas lipossomais constituídos por componentes biocompatíveis (AKBARZADEH et al., 2013; DYMEK; SIKORA, 2022; PŁACZEK et al., 2019).

Em contrapartida, as formulações contendo PTX reduziram a viabilidade celular, sendo esse efeito dependente tanto da concentração do fármaco quanto do tempo de exposição. Nesse contexto, células tumorais com maior atividade proliferativa e elevado índice mitótico tendem a ser mais suscetíveis a agentes que interferem na dinâmica dos microtúbulos. Essa característica pode explicar a maior sensibilidade das células MCF-7 em comparação aos fibroblastos FC-0024 e contribuir para a citotoxicidade preferencial das formulações contendo PTX nas células tumorais (MUSTAFA et al., 2023; TEIXEIRA et al., 2022).

Nesse contexto, o tempo de exposição constitui um determinante crítico do efeito citotóxico, uma vez que o PTX exerce sua principal ação durante a entrada das células na fase M. A exposição prolongada aumenta a probabilidade de que as células em ciclo ativo entrem em contato com o fármaco durante a mitose, elevando a frequência do bloqueio mitótico. Além

disso, períodos mais longos de incubação, como 72 h, podem favorecer o acúmulo e a retenção intracelular do PTX, permitindo que uma concentração citotóxica seja alcançada e mantida. Em modelos de células MCF-7, alterações iniciais, como a desorganização do fuso mitótico e o acúmulo de células nas fases G2/M, podem ser detectadas após 24 h de exposição. Entretanto, a transição de um bloqueio inicialmente reversível para uma redução evidente da viabilidade celular pode ocorrer posteriormente, justificando o efeito citotóxico mais acentuado após 72 h (HAN et al., 2018; HENEY et al., 2010).

Sistemas lipossomais contendo paclitaxel podem favorecer a administração intracelular do fármaco por meio da interação dos lipossomas com a membrana celular e de sua internalização por vias endocíticas. Esse processo pode aumentar a retenção celular e a concentração intracelular efetiva de PTX em comparação ao fármaco livre. Um exemplo da aplicação clínica dessa estratégia é o Lipusu®, uma formulação lipossomal de paclitaxel utilizada no tratamento do câncer na China (FERNANDES, 2023; HENEY et al., 2010; MUSTAFA et al., 2023; VALSALAKUMARI et al., 2021).

Apesar do elevado efeito citotóxico alcançado por ambas as formulações neste estudo, não foi observada diferença significativa entre Lipo-PTX e Lipo-GlcNAc-PTX em nenhuma das concentrações avaliadas após 24 horas de tratamento. Esse resultado indica que, nas condições experimentais empregadas, a funcionalização com GlcNAc não aumentou significativamente o efeito citotóxico final do PTX. Contudo, a ausência de diferença na viabilidade celular não exclui uma possível influência da GlcNAc sobre as etapas iniciais de associação e internalização dos lipossomas como foi visto para 3 h e 5 h.

As diferenças na composição, na densidade e na distribuição espacial dos glicanos entre células malignas e não malignas fornecem uma base molecular para o desenvolvimento de estratégias de reconhecimento seletivo do câncer. Nesse sentido, tem sido relatado que nanocarreadores modificados com glicanos podem apresentar maior associação e internalização celular por mecanismos mediados por receptores, incluindo interações entre carboidratos e lectinas. Portanto, os lipossomas funcionalizados com GlcNAc poderiam apresentar uma cinética inicial de interação ou internalização diferente daquela observada para os lipossomas não funcionalizados, os quais dependem principalmente de interações inespecíficas e de processos endocíticos basais (ABDAH, 2014; JIANG et al., 2014).

Entretanto, durante períodos prolongados de incubação, como 72 h, os sistemas não funcionalizados também podem se acumular progressivamente no meio intracelular por meio da endocitose, diminuindo o impacto de eventuais diferenças cinéticas iniciais. Consequentemente, ainda que a velocidade ou a eficiência inicial de captação seja diferente, a

quantidade cumulativa de PTX liberada no interior das células ao longo de 72 h pode se tornar semelhante entre as formulações. Isso explicaria por que Lipo-PTX e Lipo-GlcNAc-PTX alcançaram níveis comparáveis de citotoxicidade sob exposição contínua. Assim, embora os resultados sejam compatíveis com uma possível influência da funcionalização com GlcNAc sobre a cinética de interação e internalização celular, essa hipótese não pode ser confirmada apenas com base nos ensaios de viabilidade.

Esse comportamento dependente do tempo também é compatível com o processamento intracelular dos carreadores lipossomais. Lipossomas constituídos por fosfatidilcolina podem ser internalizados por diferentes vias endocíticas, incluindo a endocitose mediada por clatrina e, dependendo das propriedades físico-químicas da formulação e do contexto celular, a macropinocitose. Após a internalização, os lipossomas trafegam pelos compartimentos endossomais, nos quais ocorre a liberação gradual do fármaco antes que o PTX alcance seu alvo farmacológico. Todavia, o presente estudo não avaliou diretamente a captação, as vias de internalização ou o tráfego intracelular das formulações. Portanto, a contribuição de mecanismos endocíticos específicos para os efeitos observados permanece especulativa e deverá ser investigada em estudos futuros por meio de ensaios de captação celular, utilização de inibidores de vias endocíticas e análises de localização intracelular (HAN et al., 2020; HENEY et al., 2010; VALSALAKUMARI et al., 2021).

Embora a funcionalização com GlcNAc não tenha aumentado significativamente a citotoxicidade nas condições *in vitro* avaliadas, isso não exclui possíveis benefícios para o desempenho da formulação *in vivo*. Os ligantes empregados no direcionamento ativo atuam principalmente aumentando a associação com as células-alvo e a internalização endocítica após a chegada das nanopartículas ao tecido tumoral, não necessariamente promovendo maior acúmulo tumoral global. Por essa razão, possíveis melhorias na cinética de interação entre os lipossomas e as células podem não resultar em diferenças acentuadas durante exposições prolongadas *in vitro*, nas quais tanto as formulações funcionalizadas quanto as não funcionalizadas permanecem continuamente em contato com as células e dispõem de tempo suficiente para serem internalizadas e processadas (ARTA et al., 2020; BENCHIMOL et al., 2019; PENG et al., 2020; STEFANICK et al., 2014; ZHANG et al., 2018).

Em contraste, após a administração sistêmica, os nanocarreadores interagem com as células tumorais em condições dinâmicas, determinadas pela circulação sanguínea, pelo extravasamento vascular, pelo transporte no espaço intersticial e pelos mecanismos de eliminação. Essas condições produzem oportunidades transitórias e heterogêneas para a captação celular. Assim, uma formulação capaz de promover associação e internalização mais rápidas poderia

aumentar a probabilidade de disponibilização intracelular efetiva do PTX antes que as nanopartículas fossem depuradas ou redistribuídas. Entretanto, essa possibilidade deverá ser validada em modelos experimentais apropriados, uma vez que o presente estudo não avaliou diretamente os efeitos da funcionalização com GlcNAc sobre a biodistribuição, a farmacocinética, a internalização pelas células tumorais ou a eficácia terapêutica após a administração sistêmica (ARTA et al., 2020; BENCHIMOL et al., 2019; PENG et al., 2020; STEFANICK et al., 2014; ZHANG et al., 2018).

6. CONCLUSÃO

No presente estudo, foram desenvolvidos lipossomas PEGilados funcionalizados com GlcNAc e contendo paclitaxel, os quais apresentaram características físico-químicas compatíveis com sistemas nanométricos destinados à administração de fármacos. A ausência de efeitos citotóxicos das formulações vazias, Lipo e Lipo-GlcNAc, tanto em células MCF-7 quanto em fibroblastos FC-0024, demonstrou a biocompatibilidade do carreador lipídico. Por outro lado, a incorporação do paclitaxel às formulações lipossomais promoveu atividade citotóxica dependente da concentração e do tempo de exposição, com maior sensibilidade das células tumorais em comparação às células não tumorais.

Em conjunto, os resultados demonstram que os lipossomas desenvolvidos constituem plataformas biocompatíveis e promissoras para a veiculação do paclitaxel. A funcionalização com GlcNAc constitui uma estratégia potencial para o direcionamento desses sistemas a células tumorais, embora estudos adicionais envolvendo ensaios diretos de captação e internalização celular, outras linhagens tumorais e modelos *in vivo* serão necessários para determinar se a funcionalização com GlcNAc efetivamente confere vantagem ao sistema Lipo-GlcNAc-PTX para o direcionamento tumoral.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, M. A.; GUL-E-SABA; ABDAH, A. Cytotoxic effects of drug-loaded hyaluronan-glutaraldehyde cross-linked nanoparticles and the release kinetics modeling. **Journal of Advanced Chemical Engineering**, v. 4, n. 1, art. 104, 2014. DOI: 10.4172/2090-4568.1000104.
- ABOTALEB, Mariam et al. Chemotherapeutic agents for the treatment of metastatic breast cancer: an update. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 101, p. 458–477, 2018.
- AHMED, Zubair; BICKNELL, Roy. Angiogenic signalling pathways. In: MURRAY, Cliff; MARTIN, Stewart (eds.). **Angiogenesis protocols**. 2. ed. Totowa: Humana Press, 2009. p. 3–24. DOI: 10.1007/978-1-59745-241-0_1.
- AKBARZADEH, A.; REZAEI-SADABADY, R.; DAVARAN, S.; JOO, S. W.; ZARGHAMI, N.; HANIFEHPOUR, Y.; SAMIEL, M.; KOUHI, M.; NEJATI-KOSHKI, K. Liposome: classification, preparation, and applications. **Nanoscale Research Letters**, v. 8, n. 1, art. 102, 2013. DOI: 10.1186/1556-276X-8-102.
- ALMALKI, Sami G. The pathophysiology of the cell cycle in cancer and treatment strategies using various cell cycle checkpoint inhibitors. **Pathology – Research and Practice**, v. 251, 154854, 2023. DOI: 10.1016/j.prp.2023.154854.
- ANDRA, V. V. S. N. L.; PAMMI, S. V. N.; BHATRAJU, L. V. K. P.; RUDDARAJU, L. K. A comprehensive review on novel liposomal methodologies, commercial formulations, clinical trials and patents. **BioNanoScience**, v. 12, n. 1, p. 274–291, 2022. DOI: 10.1007/s12668-022-00941-x.
- ARTA, A.; LARSEN, J. B.; ERIKSEN, A. Z.; KEMPEN, P. J.; LARSEN, M.; ANDRESEN, T. L.; URQUHART, A. J. Cell targeting strategy affects the intracellular trafficking of liposomes altering loaded doxorubicin release kinetics and efficacy in endothelial cells. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 588, art. 119715, 2020. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119715.
- BARBOSA, Ana Martins; MARTEL, Fátima. Targeting glucose transporters for breast cancer therapy: the effect of natural and synthetic compounds. **Cancers**, v. 12, n. 1, p. 154, 2020. DOI: 10.3390/cancers12010154.
- BENCHIMOL, M. J.; BOURNE, D.; MOGHIMI, S. M.; SIMBERG, D. Pharmacokinetic analysis reveals limitations and opportunities for nanomedicine targeting of endothelial and extravascular compartments of tumours. **Journal of Drug Targeting**, v. 27, n. 5–6, p. 690–698, 2019. DOI: 10.1080/1061186X.2019.1566339.
- BERNARDY, Neusa et al. Nanoencapsulation of quercetin via miniemulsion polymerization. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 6, n. 2, p. 181–186, 2010. DOI: 10.1166/jbn.2010.1107.
- BISWAS, Swati et al. Liposomes loaded with paclitaxel and modified with novel triphenylphosphonium-PEG-PE conjugate possess low toxicity, target mitochondria and demonstrate enhanced antitumor effects in vitro and in vivo. **Journal of Controlled Release**, v. 159, n. 3, p. 393–402, 2012.

CARMELIET, P.; JAIN, R. K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. **Nature**, v. 473, n. 7347, p. 298–307, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10144>.

CORTE-REAL, M.; VEIGA, F.; PAIVA-SANTOS, A. C.; PIRES, P. C. Improving skin cancer treatment by dual drug co-encapsulation into liposomal systems: an integrated approach towards anticancer synergism and targeted delivery. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 9, art. 1200, 2024. DOI: 10.3390/pharmaceutics16091200.

DANAEI, M.; DEHGHANKHOLD, M.; ATAIEI, S.; HASANZADEH DAVARANI, F.; JAVANMARD, R.; DOKHANI, A.; KHORASANI, S.; MOZAFARI, M. R. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, art. 57, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>.

DAS, Tuyelee et al. Therapeutic strategies to overcome taxane resistance in cancer. **Drug Resistance Updates**, v. 55, 100754, 2021.

DEBERARDINIS, R. J.; CHANDEL, N. S. Fundamentals of cancer metabolism. **Science Advances**, v. 2, n. 5, art. e1600200, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600200>.

DYMEK, M.; SIKORA, E. Liposomes as biocompatible and smart delivery systems: the current state. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 309, art. 102757, 2022. DOI: 10.1016/j.cis.2022.102757.

ELSABAHY, Mahmoud; WOOLEY, Karen L. Design of polymeric nanoparticles for biomedical delivery applications. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 7, p. 2545–2561, 2012.

FAUBERT, Brandon; SOLMONSON, Ashley; DEBERARDINIS, Ralph J. Metabolic reprogramming and cancer progression. **Science**, v. 368, n. 6487, eaaw5473, 2020. DOI: 10.1126/science.aaw5473.

FERNANDES, D. A. Liposomes for cancer theranostics. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 10, art. 2448, 2023. DOI: 10.3390/pharmaceutics15102448.

FORNAGUERA, Cristina et al. Interactions of PLGA nanoparticles with blood components: protein adsorption, coagulation, activation of the complement system and hemolysis studies. **Nanoscale**, v. 7, n. 14, p. 6045–6058, 2015.

FRANZÉ, S.; SELMIN, F.; SAMARITANI, E.; MINGHETTI, P.; CILURZO, F. Lyophilization of liposomal formulations: still necessary, still challenging. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 3, art. 139, 2018. DOI: 10.3390/pharmaceutics10030139.

GROVER-MCKAY, Maleah; WALSH, Susan A.; SEFTOR, Elisabeth A.; THOMAS, Patricia A.; HENDRIX, Mary J. C. Role for glucose transporter 1 protein in human breast cancer. **Pathology & Oncology Research**, v. 4, n. 2, p. 115–120, 1998. DOI: 10.1007/BF02904704.

HAN, B.; YANG, Y.; CHEN, J.; TANG, H.; SUN, Y.; ZHANG, Z.; WANG, Z.; LI, Y.; LI, Y.; LUAN, X.; LI, Q.; REN, Z.; ZHOU, X.; CONG, D.; LIU, Z.; MENG, Q.; SUN, F.; PEI, J. Preparation, characterization, and pharmacokinetic study of a novel long-acting targeted

paclitaxel liposome with antitumor activity. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 553–571, 2020. DOI: 10.2147/IJN.S228715.

HAN, S. M.; BAEK, J. S.; KIM, M. S.; HWANG, S. J.; CHO, C. W. Surface modification of paclitaxel-loaded liposomes using D- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate: enhanced cellular uptake and cytotoxicity in multidrug resistant breast cancer cells. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 213, p. 39–47, 2018. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2018.03.005.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.

HENEY, M.; ALIPOUR, M.; VERGIDIS, D.; OMRI, A.; MUGABE, C.; TH'NG, J.; SUNTRES, Z. Effectiveness of liposomal paclitaxel against MCF-7 breast cancer cells. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 88, n. 12, p. 1172–1180, 2010. DOI: 10.1139/Y10-097.

HERR, Ingrid; DEBATIN, Klaus-Michael. Cellular stress response and apoptosis in cancer therapy. **Blood**, v. 98, n. 9, p. 2603–2614, 2001.

ICARD, Philippe; FOURNEL, Ludovic; WU, Zherui; ALIFANO, Marco; LINCET, Hubert. Interconnection between metabolism and cell cycle in cancer. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 44, n. 6, p. 490–501, 2019. DOI: 10.1016/j.tibs.2018.12.007.

JAIN, R. K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. **Science**, v. 307, n. 5706, p. 58–62, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1104819>.

JAIN, Vikas; JAIN, Sanyog; MAHAJAN, S. C. Nanomedicines based drug delivery systems for anti-cancer targeting and treatment. **Current Drug Delivery**, v. 12, n. 2, p. 177–191, 2015. DOI: 10.2174/1567201811666140822112516.

JARADAT, E.; WEAVER, E.; MEZIANE, A.; LAMPROU, D. A. Synthesis and characterization of paclitaxel-loaded PEGylated liposomes by the microfluidics method. **Molecular Pharmaceutics**, v. 20, n. 12, p. 6184–6196, 2023. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.3c00596.

JIANG, X.; XIN, H.; GU, J.; DU, F.; FENG, C.; XIE, Y.; FANG, X. Enhanced antitumor efficacy by D-glucosamine-functionalized and paclitaxel-loaded poly(ethylene glycol)-co-poly(trimethylene carbonate) polymer nanoparticles. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 103, n. 5, p. 1487–1496, 2014. DOI: 10.1002/jps.23928.

JIN, Haoyi; LIU, Xi; LIU, Hong-Xu. Biological function, regulatory mechanism, and clinical application of mannose in cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer**, v. 1878, n. 6, 188970, 2023.

KANG, Xue-Jia et al. Codelivery of dihydroartemisinin and doxorubicin in mannosylated liposomes for drug-resistant colon cancer therapy. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 38, n. 6, p. 885–896, 2017.

KROEMER, Guido; POUYSSÉGUR, Jacques. Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. **Cancer Cell**, v. 13, n. 6, p. 472–482, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.05.005>.

LIBERTI, Maria V.; LOCASALE, Jason W. The Warburg effect: how does it benefit cancer cells? **Trends in Biochemical Sciences**, v. 41, n. 3, p. 211–218, 2016. DOI: [10.1016/j.tibs.2015.12.001](https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.12.001).

LOMBARDO, D.; CALANDRA, P.; CACCAMO, M. T.; MAGAZÙ, S.; KISELEV, M. A. Colloidal stability of liposomes. **AIMS Materials Science**, v. 6, n. 2, p. 200–213, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3934/matricsci.2019.2.200>.

LUENGO, Alba; GUI, Dan Y.; VANDER HEIDEN, Matthew G. Targeting metabolism for cancer therapy. **Cell Chemical Biology**, v. 24, n. 9, p. 1161–1180, 2017. DOI: [10.1016/j.chembiol.2017.08.028](https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2017.08.028).

MA, Ping. Paclitaxel nano-delivery systems: a comprehensive review. **Journal of Nanomedicine & Nanotechnology**, v. 4, n. 2, p. 140–149, 2013.

MACIEJOWSKI, J.; DE LANGE, T. Telomeres in cancer: tumour suppression and genome instability. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 18, n. 3, p. 175–186, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.171>.

MAHTANI, Reshma L. et al. Comparative effectiveness of early-line nab-paclitaxel vs. paclitaxel in patients with metastatic breast cancer: a US community-based real-world analysis. **Cancer Management and Research**, v. 10, p. 249–256, 2018.

MARITIM, S.; BOULAS, P.; LIN, Y. Comprehensive analysis of liposome formulation parameters and their influence on encapsulation, stability and drug release in glibenclamide liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 592, art. 120051, 2021. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2020.120051](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120051).

MARTINEZ-OUTSCHOORN, U. E.; PEIRIS-PAGÉS, M.; PESTELL, R. G.; SOTGIA, F.; LISANTI, M. P. Cancer metabolism: a therapeutic perspective. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 14, n. 1, p. 11–31, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.60>.

MICHELETTO, Y. M. S.; DA SILVEIRA, N. P.; BARBOZA, D. M.; DOS SANTOS, M. C.; DE LIMA, V. R.; GIACOMELLI, F. C.; MARTINEZ, J. C. V.; FRIZON, T. E. A.; DAL BÓ, A. G. Investigation of self-association between new glycosurfactant N-acetyl- β -D-glucosaminyl-PEG-docosanate and soybean phosphatidylcholine into vesicles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 467, p. 166–172, 2015. DOI: [10.1016/j.colsurfa.2014.11.052](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.11.052).

MONTEIRO, L. O. F.; MALACHIAS, Â.; POUND-LANA, G.; MAGALHÃES-PANIAGO, R.; MOSQUEIRA, V. C. F.; OLIVEIRA, M. C.; DE BARROS, A. L. B.; LEITE, E. A. Paclitaxel-loaded pH-sensitive liposome: new insights on structural and physicochemical characterization. **Langmuir**, v. 34, n. 20, p. 5728–5737, 2018. DOI: [10.1021/acs.langmuir.8b00411](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b00411).

MUSTAFA, G.; HASSAN, D.; RUIZ-PULIDO, G.; POURMADADI, M.; ESHAGHI, M. M.; BEHZADMEHR, R.; TEHRANI, F. S.; RAHDAR, A.; MEDINA, D. I.; PANDEY, S. Nanoscale drug delivery systems for cancer therapy using paclitaxel: a review of challenges

and latest progressions. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 84, art. 104494, 2023. DOI: 10.1016/j.jddst.2023.104494.

NANDA, B.; MANJAPPA, A. S.; CHUTTANI, K.; BALASINOR, N. H.; MISHRA, A. K.; RAMACHANDRA MURTHY, R. S. Acylated chitosan anchored paclitaxel loaded liposomes: pharmacokinetic and biodistribution study in Ehrlich ascites tumor bearing mice. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 367–379, 2019. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.071.

NÉMETH, Z.; CSÓKA, I.; SEMNANI JAZANI, R.; SIPOS, B.; HASPEL, H.; KOZMA, G.; KÓNYA, Z.; DOBÓ, D. G. Quality by design-driven zeta potential optimisation study of liposomes with charge imparting membrane additives. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 9, art. 1798, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14091798>.

NIJHAWAN, H. P.; SHYAMSUNDAR, P.; PRABHAKAR, B.; YADAV, K. S. PEGylated pH-responsive liposomes for enhancing the intracellular uptake and cytotoxicity of paclitaxel in MCF-7 breast cancer cells. **AAPS PharmSciTech**, v. 25, n. 7, art. 216, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1208/s12249-024-02930-7>.

OTTO, Angela M. Warburg effect(s)—a biographical sketch of Otto Warburg and his impacts on tumor metabolism. **Cancer & Metabolism**, v. 4, n. 5, 2016. DOI: 10.1186/s40170-016-0145-9.

PAN, Zhi; AVILA, Andrew; GOLLAHON, Lauren. Paclitaxel induces apoptosis in breast cancer cells through different calcium-regulating mechanisms depending on external calcium conditions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 2, p. 2672–2694, 2014.

PENG, F.; LI, R.; ZHANG, F.; QIN, L.; LING, G.; ZHANG, P. Potential drug delivery nanosystems for improving tumor penetration. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 151, p. 220–238, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2020.04.009>.

PŁACZEK, M.; WĄTRÓBSKA-ŚWIETLIKOWSKA, D.; STEFANOWICZ-HAJDUK, J.; DRECHSLER, M.; OCHOCKA, J. R.; SZNITOWSKA, M. Comparison of the *in vitro* cytotoxicity among phospholipid-based parenteral drug delivery systems: emulsions, liposomes and aqueous lecithin dispersions (WLDs). **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 127, p. 92–101, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.10.018>.

REIS, Catarina Pinto; NEUFELD, Ronald J.; RIBEIRO, António J.; VEIGA, Francisco. Nanoencapsulation I: methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 2, n. 1, p. 8–21, 2006. DOI: 10.1016/j.nano.2005.12.003.

RODRIGUES, M. S. et al. Nanotechnology as a therapeutic strategy to prevent neuropsychomotor alterations associated with hypercholesterolemia. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 201, 111608, 2021.

SAMAAN, Tala M. Abu et al. Paclitaxel's mechanistic and clinical effects on breast cancer. **Biomolecules**, v. 9, n. 12, 789, 2019.

SCHWARTZ, Stephen M. Epidemiology of cancer. **Clinical Chemistry**, v. 70, n. 1, p. 140–149, 2024.

SHAY, J. W.; WRIGHT, W. E. Telomeres and telomerase: three decades of progress. **Nature Reviews Genetics**, v. 20, n. 5, p. 299–309, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0099-1>.

SHESTOV, Alexander A.; LIU, Xiaojing; SER, Zheng; CLUNTUN, Ahmad A.; HUNG, Yin P.; HUANG, Lei; KIM, Dongsung; LE, Anne; YELLEN, Gary; ALBECK, John G.; LOCASALE, Jason W. Quantitative determinants of aerobic glycolysis identify flux through the enzyme GAPDH as a limiting step. **eLife**, v. 3, e03342, 2014. DOI: 10.7554/eLife.03342.

SINGH, Rajesh; LILLARD JR., James W. Nanoparticle-based targeted drug delivery. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 86, n. 3, p. 215–223, 2009. DOI: 10.1016/j.yexmp.2008.12.004.

SUKHANOVA, Alina et al. Dependence of nanoparticle toxicity on their physical and chemical properties. **Nanoscale Research Letters**, v. 13, 44, 2018.

SZABLEWSKI, Leszek. Expression of glucose transporters in cancers. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer**, v. 1835, n. 2, p. 164–169, 2013. DOI: 10.1016/j.bbcan.2012.12.004.

TAN, Zhongyi; WEN, Lai; GUAN, Hewen; BAO, Nabuqi; ZHANG, Zijing; JI, Xu; LIN, Lin. Mechanistic role of glycolytic pathways in the tumor microenvironment in driving chemoresistance. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, 22 jul. 2026. DOI: 10.3389/fcell.2026.1883537.

ULBRICH, Karel et al. Targeted drug delivery with polymers and magnetic nanoparticles: covalent and noncovalent approaches, release control, and clinical studies. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 9, p. 5338–5431, 2016.

VAUPEL, Peter; MULTHOFF, Gabriele. Revisiting the Warburg effect: historical dogma versus current understanding. **The Journal of Physiology**, v. 599, n. 6, p. 1745–1757, 2021. DOI: 10.1113/JP278810.

VAUPEL, Peter; SCHMIDBERGER, Heinz; MAYER, Arnulf. The Warburg effect: essential part of metabolic reprogramming and central contributor to cancer progression. **International Journal of Radiation Biology**, v. 95, n. 7, p. 912–919, 2019. DOI: 10.1080/09553002.2019.1589653.

VEDOVE, Elena Dalle; COSTABILE, Gabriella; MERKEL, Olivia M. Mannose and mannose-6-phosphate receptor-targeted drug delivery systems and their application in cancer therapy. **Advanced Healthcare Materials**, v. 7, n. 14, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cancer**. Geneva: WHO, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Acesso em: 15 jan. 2025.

YANG, Muyue; LI, Jipeng; GU, Ping; FAN, Xianqun. The application of nanoparticles in cancer immunotherapy: targeting tumor microenvironment. **Bioactive Materials**, v. 6, n. 7, p. 1973–1987, 2021.

YE, Jun et al. Drug-free mannosylated liposomes inhibit tumor growth by promoting the polarization of tumor-associated macrophages. **International Journal of Nanomedicine**, v. 14, p. 3203–3220, 2019.

YOUNG, Christian D.; LEWIS, Andrew S.; RUDOLPH, Michael C.; RUEHLE, Marisa D.; JACKMAN, Matthew R.; YUN, Ui J.; ILKUN, Olesya; PEREIRA, Renata; ABEL, E. Dale; ANDERSON, Steven M. Modulation of glucose transporter 1 (GLUT1) expression levels alters mouse mammary tumor cell growth in vitro and in vivo. **PLoS ONE**, v. 6, n. 8, e23205, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0023205.

ZHAO, Yan et al. Mannose-modified liposome co-delivery of human papillomavirus type 16 E7 peptide and CpG oligodeoxynucleotide adjuvant enhances antitumor activity against established large TC-1 grafted tumors in mice. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 9571–9586, 2020.

ZHOU, Jia et al. The anticancer efficacy of paclitaxel liposomes modified with mitochondrial targeting conjugate in resistant lung cancer. **Biomaterials**, v. 34, n. 14, p. 3626–3638, 2013